

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1919-1920. — N° 302

INFLUENCE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE

ET

MOLÉCULAIRE DU MILIEU DE CULTURE ET DU SÉRUM

dans les phénomènes d'agglutination

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 9 Juillet 1920

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

RENÉ LE MITOUARD

né le 24 décembre 1893 à l'Isle-aux-Moines (Morbihan)



VANNES

IMPRIMERIE A. COMMELIN

12, RUE DE LA MONNAIE

1920

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1919-1920. — N° 302

INFLUENCE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE

ET

MOLÉCULAIRE DU MILIEU DE CULTURE ET DU SÉRUM

dans les phénomènes d'agglutination



THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

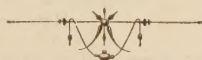
Et soutenue publiquement le 9 Juillet 1920

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

RENÉ LE MITOUARD

né le 24 décembre 1893 à l'Isle-aux-Moines (Morbihan)



VANNES

IMPRIMERIE A. COMMELIN

12, RUE DE LA MONNAIE

1920

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. HUGOUNENQ DOYEN.
J. LEPINE ASSESSEUR.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. AUGAGNEUR, SOULIER, CAZENEUVE, PIERRET,
BEAUVISAGE, LACASSAGNE, MORAT, TESTUT, POLLOSSON (M.)

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. TEISSIER
Cliniques chirurgicales	ROQUE
Clinique obstétricale et Accouchements	BARD
Clinique ophtalmologique	TIXIER
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	BERARD
Clinique des maladies nerveuses et mentales	FABRE
Clinique des maladies des enfants	ROLLET
Clinique des maladies des femmes	NICOLAS
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie	LEPINE (J.)
Chimie biologique	WEILL
Chimie organique et Toxicologie	POLLOSSON (A.)
Matière médicale et Botanique	CLUZET
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	HUGOUNENQ
Anatomie	MOREL
Anatomie générale et Histologie	MOREAU
Physiologie	GUIART
Pathologie interne	LATARJET
Pathologie et Thérapeutiques générales	POLICARD
Anatomie pathologique	DOYON
Médecine opératoire	COLLET
Médecine expérimentale et comparée	MOURIQUAND
Médecine légale	PAVIOT
Hygiène	X...
Thérapeutique	ARLOING (F.)
Pharmacologie	ETIENNE MARTIN
	COURMONT (P.)
	PIC
	FLORENCE

PROFESSEURS ADJOINTS

Maladies des oreilles, du nez et du larynx	MM. LANNOIS
Pathologie externe	VALLAS
Maladies des voies urinaires	ROCHET
Propédeutique de gynécologie	CONDAMIN

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Chimie minérale	MM. BARRAL,	agrégé
Chirurgie infantile	NOVÉ-JOSSERAND,	—
Accouchements	COMMANDEUR,	—
Embryologie	X...	—
Anatomie topographique	PATEL,	—
Botanique	BRETIN,	—
Chirurgie expérimentale	VILLARD,	—
Clinique infantile	X...	—
Déontologie et médecine professionnelle	X...	—

AGRÉGÉS

MM.	MM.	MM.	MM.
BARRAL	LERICHE	SAVY	BONNAMOUR, chargé
COMMANDEUR	THÉVENOT (Léon)	FROMENT	des fonctions.
NEVEU-LEMAIRE	TAVERNIER	THÉVENOT (Lucien)	SARVONAT id.
LAROYENNE	CADE	PIÉRY	FAVRE id.
VORON	GUILLEMARD	COTTE	GRAVIER id.
NOGIER	GARIN	DUROUX	ROUBIER id.
BRETIN			

M. BAYLE, secrétaire

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. ARLOING, Président ; GUIART, Assesseur ;
MM. NEVEU-LEMAIRE et GARIN, Agrégés.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A MA FEMME

A TOUS LES MIENS

A TOUS MES CAMARADES

morts au champ d'honneur

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR F. ARLOING

Professeur de Médecine expérimentale

*Que nous remercions bien vivement
de l'honneur qu'il nous fait en
acceptant la présidence de notre
thèse.*

A MON JURY.

AVANT-PROPOS

L'idée de cette thèse nous a été donnée en parcourant les notes de laboratoire de notre père, Pharmacien major. Chargé de procéder aux Séro-Diagnostics de nombreux malades atteints de dothiémentérie, il avait remarqué que les résultats étaient toujours inconstants malgré le diagnostic clinique nettement confirmé de l'infection Eberthienne et malgré les précautions minutieusement prises.

Recherchant les causes de ces variations, il ne tarda pas à se rendre compte qu'elles provenaient en grande partie de la composition chimique du bouillon de culture et de la teneur en matières protéiques du sérum employé.

Nous avons repris cette étude et c'est le résultat de nos recherches et de nos expériences qui fera l'objet de cette thèse.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552307_0063

1^{re} PARTIE

DÉFINITION DU PHÉNOMÈNE D'AGGLUTINATION

« Tout le monde sait que, sous l'action de certains sérums immunisés ou non immunisés, les microbes perdent leur mobilité, lorsqu'elle existe, que les plus voisins semblent s'attirer réciproquement pour former de petits amas qui grossissent par l'adjonction de nouveaux microbes entraînés par les courants de la préparation dans la zone d'attraction des petits amas. »

Telle est la définition donnée par M. le professeur *S. Arloing*, en mai 1898, dans son rapport à l'Académie des Sciences sur « le Mécanisme de l'Agglutination des microbes par des sérums normaux ou immunisés ». Il ajoutait : « Le sérum a donc apporté dans la culture homogène des microbes une substance, qu'en raison de ses manifestations, on peut appeler substance agglutinante ou agglutinine ; quant à la culture, elle renferme les éléments agglutinables. »

Voyons donc ce que l'on entend par agglutinines et par éléments agglutinables.

HYPOTHÈSE SUR LA NATURE DES SUBSTANCES
AGGLUTINANTE ET AGGLUTINABLE

Le sérum d'un individu peut posséder ou acquérir la propriété de réunir en amas les bactéries ou les cellules. Comment expliquer cette action agglutinante ?

De nombreuses hypothèses ont été émises pour expliquer ce fait. Nous allons les passer en revue très rapidement.

Tout d'abord, pour *Widal et Sicard*, dans le sang et les humeurs qui en dérivent, la puissance agglutinative semble attachée au fibrinogène et à la globuline.

D'après *Achard et R. Bensaude*, la propriété d'agglutiner les microbes, que le sérum acquiert dans certaines infections, lui viendrait exclusivement des leucocytes ; ceux-ci la lui communiqueraient en exsudant leur contenu pendant la coagulation.

Nicolle et Trenel trouvent que l'aptitude agglutinative et la fonction agglutinogène sont des propriétés de la membrane d'enveloppe des microbes. Ils remarquent qu'il faut avoir une technique uniforme. Ils établissent une courbe de l'agglutinine, étudient l'influence des saignées sur cette courbe et précisent les conditions d'agglutination de cultures mortes.

Gengou trouve que certains précipités chimiques agglutinent puis hémolysent les globules rouges et que le sérum empêche, même à petite dose, l'agglutination des globules précipités.

Bossaert et Malvoz montrent que l'on peut provoquer le phénomène, non seulement par les sérums spécifiques,

mais aussi par des substances chimiques (aldéhyde formique, sublimé, eau oxygénée, sulfate d'ammoniaque, acide acétique ou lactique dilué) et les matières colorantes (safranine, nésovine, fuschine en solution aqueuse).

Pour *Nicolle*, les corps de certains microbes, vivants ou morts, renferment une substance particulière, substance agglutinée ou agglutinable à l'existence de laquelle est liée l'apparition du phénomène de l'agglutination microbienne.

Pour *Grubert*, *Bordet*, les éléments agglutinables de la culture seraient exclusivement des microbes.

Pour *Nicolle*, *Paltauf*, les éléments agglutinables d'une culture seraient figurés et amorphes, c'est-à-dire comprendraient :

D'une part, le microbe ;

D'autre part, une substance diffusée dans le milieu ambiant ou fixée dans l'enveloppe du Bacille ou à la surface des cils.

Maintenant, il est admis que les sérums contiennent des substances dites agglutinines qui, par un mécanisme obscur, déterminent l'agglutination des microbes en suspension dans les liquides.

On est réduit aux hypothèses sur l'origine et la nature de cette substance. Jamais ces agglutinines n'ont été isolées. On a pu, par des procédés spéciaux (précipitation par des réactifs chimiques, filtration), faire varier et même disparaître le pouvoir agglutinogène ; mais, notons en passant, que ces procédés sont ceux-là même qui font varier dans le même sens l'acéto-globuline dont nous reparlerons bientôt.

MÉCANISME DE L'AGGLUTINATION

Divers auteurs ont cherché à voir, à comprendre ce qui se passait pendant la réaction, et déjà, en 1898, *Bordet*, reprenant les travaux de *Duclaux*, prétendait que les particules très fines, visibles ou invisibles, resteraient en suspension dans un liquide tant que l'état d'équilibre entre la pesanteur et les forces moléculaires resterait intact ; mais si cet état d'équilibre est troublé, soit que l'adhésion entre le liquide et le solide ait diminué, soit que la force d'attraction entre les particules du solide ait augmenté, celui-ci se remet en agrégats de plus en plus volumineux, qui redeviennent visibles à l'œil nu et se précipitent.

S. Arloing, le premier, complète ces données en montrant que, l'adjonction d'une très petite quantité de sel marin ou même d'autres substances organiques, ajoutées aux émulsions de microbe dans l'eau (chlorure de potassium, bicarbonate de soude, peptone pur, etc.) rendait subitement possible l'action agglutinante d'un sérum sur une émulsion de bacille, faite dans l'eau distillée.

Bordet, dans les Annales de l'Institut Pasteur, en 1897, dit : « L'agglutinine qui se fixe sur le microbe agit en

modifiant les rapports d'attractions moléculaires qui unissent les particules microbiennes, d'une part avec leurs voisines, d'autre part avec le milieu ambiant.

Le phénomène d'agglutination se trouve donc, pour *Bordet*, divisé en deux phases :

1^{re} phase : Les microbes sont touchés par l'agglutinine qu'ils fixent. Ils subissent alors des modifications dans leur propriété d'adhésion moléculaire ;

2^e phase : Ces modifications provoquent l'agglutination proprement dite.

Dans des comptes rendus à l'Académie des Sciences (mai 1898), *S. Arloing* expose ses expériences « in vivo » portant sur l'agglutination des bacilles de Koch. Il montre que le sang de chèvre peut acquérir les propriétés d'agglutiner complètement le bacille de Koch suspendu dans des émulsions homogènes, *non seulement* par des injections sous-cutanées de Tuberculines ou de bacilles plus ou moins virulents, *mais encore* par des injections répétées d'eucalyptol, de gâïacol, de créosote de liqueur de Mialhe (sublimé corrosif). La rapidité de l'agglutination varie suivant la substance chimique employée, dit-il. On voit donc, dès 1898, après les magistrales expériences de *S. Arloing*, intervenir la notion de modifications apportées par les agents chimiques.

Dans leurs travaux sur les variations de l'agglutination des bacilles de la Tuberculose, *S. Arloing* et *P. Courmont* arrivent aux conclusions suivantes :

1^o Il y a des cultures homogènes agglutinables et d'autres complètement dépourvues d'agglutinabilité ;

2^o L'origine des cultures ne semble pas avoir d'influence sur ces propriétés ;

3° Toutes les cultures employées ont été agglutinogènes;

4° Il semble donc que le pouvoir agglutinogène soit plus constant.

En pratique, disent ces auteurs, il faudra se servir d'un bacille bien agglutinable, quel que soit son origine, et cultivé dans les conditions requises.

Déjà, en 1898, *S. Arloing* exprimait ce fait important que, suivant le milieu de culture, l'âge, etc., les réactions étaient plus ou moins nettes.

En outre, *S. Arloing* et *P. Courmont* se sont demandé si :

Les sérums agglutinant les b. d'Eberth n'auraient pas la même action sur le b. de Koch. Ils avaient observé que le sérum d'un très grand nombre de personnes infectées par la fièvre typhoïde agglutinait les cultures homogènes de b. de Koch.

Plusieurs théories tendent à expliquer ce fait.

Présence chez un même sujet de la fièvre typhoïde et de la bacillose, disent les uns.

Théorie infirmée par l'autopsie et la clinique sauf de rares exceptions.

Microbisme tuberculeux latent chez un Eberthien, disent les autres.

Parallélisme de l'action de l'agglutinine typhique sur le bacille de Koch prétendent certains. Pour ce dernier bacille, le sérum d'un sujet donné devenant agglutinant par le fait même qu'il agglutine le b. d'Eberth.

Cependant, *S. Arloing* et *P. Courmont*, après de nombreuses expériences « in vivo » sur cobayes, chiens et lapins, concluent qu'il n'y a pas de corrélation, pour un sérum éberth, entre son pouvoir agglutinant sur le

b. d'Eberth, et son pouvoir agglutinant sur le b. de Koch. Il semble que ce ne soit pas la même substance qui, dans le sérum des typhiques, agglutine le b. d'Ebert et le b. de Koch.

Cependant, à la suite d'expériences récentes, on a remarqué ce qu'on appelle « les phénomènes d'agglutination de groupe », c'est-à-dire la propriété que possèdent certains sérums immunisés pour un microbe bien défini d'agglutiner les espèces voisines et même, quelquefois, les espèces éloignées.

Ceci est compatible avec notre hypothèse. Une culture de coli bacille, de Para A., de Para B., de bacille de Koch, pourra être agglutinée par un sérum immunisé pour le bacille d'Eberth, par exemple, à condition, toutefois, que le sérum et le milieu de culture présentent les conditions chimiques nécessaires et suffisantes.

Notons les conclusions de *S. Arloing* dans son étude sur « Le mécanisme de l'agglutination des microbes par les sérums normaux ou immunisés » (Mai 1898) : « Des théories émises jusqu'à ce jour, pour expliquer l'agglutination des microbes, celle qui se rattache à la modification des attractions moléculaires, sous l'influence des sérums, a, pour elle, le plus grand nombre de probabilités. Le fait d'influence qui appartient à la modification des microbes et à la modification du milieu ambiant a besoin d'être revisé et précisé. »

Tout récemment, dans le journal de Médecine de Lyon (Mai 1920), dans l'article intitulé « Revue critique sur le mécanisme de la Réaction de fixation du complément appliqué à la Syphilis, » M. le Professeur *F. Arloing* et son élève *Langeron* font voir l'importance des facteurs

physico-chimiques (chaleur, acidité, alcalinité, etc).
On revient donc à la conception physico-chimique de la
réaction de fixation et toutes les réactions de diagnostic
issues de la Réaction de Wasserman, et par extension les
phénomènes d'agglutination, peuvent être groupés,
comme l'a fait récemment Vollman, en précipito-Réaction
et Réaction de coagulation.

2^e PARTIE

ÉTUDE CRITIQUE DE LA SERO-AGGLUTINATION

Dans le rapide exposé que nous venons de faire, nous remarquons que les différents auteurs, qui ont étudié le phénomène d'agglutination, n'ont pas attaché une bien grosse importance à l'étude chimique des deux milieux en présence :

D'une part, le bouillon de culture ;

D'autre part, le sérum immunisé ou non.

Sans préjuger de l'existence ou de la nature des agglutinines ou autres substances albuminoïdes pouvant exister dans le sérum d'un individu sain ou malade et provoquer l'agglutination, examinons la composition du milieu de culture, l'action propre du microbe sur ce milieu et les modifications qui se produisent lorsque le mélange culture + sérum s'effectue.

1^o *Composition du milieu de culture.* Le bouillon de culture est un milieu complexe et très variable. Il contient, non seulement la peptone (10 gr. par litre) et du chlorure de sodium (5 gr.) qu'on y a ajouté, mais encore des sels alcalins, minéraux et organiques (phosphates, lactates, acétates) en plus ou moins grande proportion,

puis des matières protéïques. Après un ensemencement par le bacille d'Eberth, par exemple, il présente, à la suite d'un séjour de 12 à 24 heures dans une étuve à 37°, une acidité variable mais marquée. Cette acidité varie suivant l'espèce du microbe, la composition du bouillon et provient des phénomènes oxydants ou réducteurs produits par le bacille sur les matières protéïques ou les hydrates de carbone du bouillon. Elle est due notamment à l'acidité du phosphate acide de sodium, à l'acide lactique, quelquefois à l'acide acétique et à des acides amidés.

Le bouillon pourra être glucosé, lactosé, glycérimé (ce dernier convenant spécialement aux cultures du b. de Koch (*S. Arloing*)). On pourra faire varier la teneur des sels minéraux ou organiques suivant le microbe considéré. *S. Arloing* a montré qu'un bouillon salé conserve plus longtemps la virulence du streptococque pyogène.

On pourra se servir d'une culture sur milieu solide (gélose, par exemple), dont on mélangera une parcelle avec du sérum physiologique (Eau distillée 1000. N a C 1 7 à 10).

L'action chimique des bacilles sur les milieux de culture, qui n'est en somme qu'un corollaire de la composition de ces milieux, est très complexe, son mécanisme nous échappe ; cependant nous savons que certains bacilles acidifient beaucoup plus leur milieu de culture que d'autres. Cette production d'acide dépendra de la composition du milieu et de la nature même du microbe.

Duclaux, le premier, a ajouté de la teinture de Tourne-sol aux milieux liquides pour savoir à la couleur du bouillon si celui-ci était devenu acide ou neutre. En expé-

rimentant avec le b. d'Eberth et le coli bacille on voit que ce dernier « fabrique plus d'acide ».

Première différenciation dans la composition finale de ces deux cultures, différenciation qui a peut-être une répercussion sur le phénomène d'agglutination puisque le coli bacille n'agglutine pas ou très peu.

Si on utilise le procédé au Neutrol Roth, préconisé par *Roth-berger*, en 1898, pour différencier le b. d'Eberth et le coli bacille, on voit qu'après 24 à 48 h. le b. d'Eberth ne modifie pas le rouge tandis que le coli bacille le fait virer au jaune canari avec fluorescence et bulles gazeuses.

Mais *Sauvage*, dans ses conclusions (1901), indique qu'après 72 heures, le b. d'Eberth ne donne plus de réaction négative, l'acidité a notablement augmenté.

En résumé, quelque milieu de culture que l'on emploie : bouillon animal, liqueur chimiquement définie, gelose, etc., on a presque toujours une acidité plus ou moins marquée lorsqu'un B. quelconque y a été cultivé un temps suffisant. Cette production acide est fonction de la nature du microbe, de la teneur en sels du milieu de culture et de l'âge de cette culture.

2° *Composition du sérum*. Un sérum est un milieu très complexe renfermant quantité de substances minérales et organiques. Parmi ces dernières nous ne retiendrons que les albumines suivantes :

Globuline ;

Sérine ;

Acéto-globuline.

ou albumine acéto soluble de *Patein*, cette albumine peut être mise facilement en évidence et se séparer des 2 autres par le fait que, seule, elle précipite par addition

d'une solution très légèrement acidulée. Cette acéto globuline joue un rôle prépondérant dans les phénomènes d'agglutination ainsi que les expériences suivantes tendent à le montrer.

1^{re} EXPÉRIENCE

Si nous ajoutons dans un verre de montre contenant par exemple 20 gouttes d'eau distillée légèrement acidifiée (2 gouttes d'acide acétique pour 250^{cc} d'eau distillée) une goutte de sérum *quelconque*, normal, thérapeutique ou pathologique, en plaçant le verre de montre au-dessus d'un fond noir, nous assistons au phénomène suivant : la goutte de sérum s'étend, semble s'opacifier, il se forme dans toute la masse des stries puis, comme un réseau fibrineux, le liquide entier devient opalescent, se trouble et il se dépose finalement au bout de quelques instants un précipité plus ou moins floconneux. Ce précipité n'est autre que *l'acéto globuline* de Patein qui présente tous les caractères chimiques décrits par cet auteur.

Ajoutons, en effet, dans le verre de montre, quelques gouttes de notre eau distillée légèrement acidulée. Le précipité d'acéto globuline disparaît instantanément. Il est donc soluble dans un excès d'acide.

Ajoutons, au contraire, quelques gouttes d'une solution de chlorure de sodium à 0 gr. 60 pour 100, le précipité disparaît en partie et d'autant plus vite que la teneur en NaCl est plus forte. La solubilisation est complète si on ajoute une trace de carbonate de soude. Les résultats seraient identiques avec une solution de phosphate,

d'acélate ou de lactate alcalin. Donc, chaque fois que l'on ajoute une goutte de sérum à de l'eau légèrement acidulée par l'acide acétique ou par un acide quelconque (lactique, chlorhydrique azotique), il se forme un précipité d'acéto globuline, soluble dans un excès de liquide et en partie soluble dans les solutions de sels alcalins.

Ces réactions sont très délicates et sensibles. Une acidité, une alcalinité minime en plus ou en moins empêchant l'acéto globuline de se précipiter entièrement.

2^e EXPÉRIENCE

Ajoutons maintenant à un bouillon de culture d'Eberth ayant passé 12 à 24 heures à l'étuve, c'est-à-dire présentant une acidité très légère mais suffisante, une ou deux gouttes de sérum de typhique. Il se formera de l'acéto globuline et finalement au bout d'une 1/2 heure, d'une heure on aura un précipité plus ou moins floconneux d'acéto globuline entraînant, emprisonnant dans son réseau fibrilleux les b. d'Eberth.

Ce n'est là que l'expérimentation de l'hypothèse de *Paltauf* attribuant l'agglutination à l'entraînement mécanique dans les mailles d'un coagulum né dans le liquide ambiant en dehors d'un microbe et dû à la réaction des agglutines sur la nature microbienne. A la simple inspection microscopique, on aura une réaction soi-disante positive par le mélange d'acéto globuline et de bacilles et non par agglutination proprement dite des bacilles.

Comme dans le bouillon de culture, il existe des sels

alcalins et surtout du NaCl en plus ou moins grande quantité, le précipité d'acéto globuline sera plus ou moins dissous — le phénomène sera plus ou moins prononcé.

Il est d'ailleurs facile de s'en rendre compte par un tube témoin, dans lequel on neutralisera l'acidité par quelques gouttes de solution de soude au centième afin d'éviter la précipitation d'acéto globuline ; remettons en suspension par agitation le contenu des deux tubes qui renferme à peu près le même nombre de bacilles ; le contenu devrait avoir sensiblement le même trouble léger. Or, il n'en est rien, le tube où s'est produit l'agglutination reste infiniment plus troublé, c'est donc que ce précipité n'est pas formé entièrement par l'agglutination seule des bacilles mais encore par une autre substance qui n'est autre que l'acéto globuline.

On peut faire disparaître facilement cette pseudo agglutination soit en empêchant l'acéto globuline de se former soit en augmentant ou neutralisant l'acidité ainsi que nous l'avons vu.

3^e EXPÉRIENCE

Si dans un sérum donnant une séro-réaction d'agglutination positive on enlève l'acéto-globuline par addition de quelques gouttes d'acide acétique très dilué ; après avoir centrifugé pour séparer le liquide clair et neutralisé exactement par quelques gouttes de solution de soude à $\frac{\text{N}}{10}$ ou $\frac{\text{N}}{100}$ l'agglutination ne se produit plus. L'agglutinine a donc été enlevée en même temps que

l'acéto-globuline. Mais alors elle faisait partie intégrante de cette substance.

Cet essai n'est d'ailleurs que la reproduction d'une expérience analogue de *Patein*. Dans son étude sur « l'influence de la précipitation de l'acéto-globuline sur le pouvoir hémolytique du sérum de lapin », il montre, que le sérum de l'homme et celui du cheval, privé de leur acéto-globuline, perdent leur pouvoir hémolytique vis-à-vis des globules rouges du mouton et du lapin.

Lorsque l'on procède à l'examen microscopique d'une de ces agglutinations, on n'aperçoit que des amas de bacilles plus ou moins isolés les uns des autres, ce qui a fait croire à une réaction positive.

Le précipité d'acéto-globuline, incolore, ou presque, très tenu, très réfringent, s'aperçoit difficilement car chaque parcelle amorphe d'albumine semble entourée et plaquée de bacilles.

Pour détruire cette agglutination, il suffit, dans ce cas, d'ajouter avec précaution 1 goutte de solution alcaline diluée entre lame et lamelle, l'acéto-globuline devient soluble et les bacilles n'étant plus retenus par leur support redeviennent libres et sont entraînés au hasard sous la lamelle par les phénomènes de capillarité.

Nos recherches ont porté sur les bouillons de culture classiques contenant 10 gr. de peptone et 5 gr. de N a c l par litre sur des liquides chimiquement définis et sur les cultures sur gélose. Nous avons toujours noté l'importance du facteur : acidité.

Nous avons fait d'autres expériences avec le contenu d'ampoules scellées de sérums agglutinants différents bacilles (le b. d'Eberth, le Para A, le Para B., le B.

Méningocoque, etc.) et chaque fois nous avons pu mettre en évidence la précipitation de l'acéto-globuline par une solution acidulée. Seulement, il semble que la quantité d'acéto-globuline varie suivant l'espèce de sérum considéré. On peut arriver à cette hypothèse, que suivant la nature du microbe ou de la toxine injectée à un animal (cheval, lapin) pour avoir un sérum à pouvoir agglutinant on a une proportion plus ou moins grande d'acéto-globuline.

Il semble donc que l'acéto-globuline joue un rôle très important dans les phénomènes d'agglutination. *Plus la proportion d'acéto-globuline sera élevée dans le sérum, plus l'agglutination sera accentuée*, à condition toutefois que l'acidité du milieu soit suffisante pour le précipiter totalement dans ce sérum.

Or l'acéto-globuline, d'après *Patein*, varie dans les sérums thérapeutiques de 3 gr. 50 à 5 gr. 10 environ. Dans toutes les pyrexies, et particulièrement dans la fièvre typhoïde, le malade s'alimente peu ou pas et fait par conséquent de l'autophagie, il est certain que les échanges organiques sont profondément troublés et que la quantité des matières protéiques du sérum (sérine, globuline et surtout acéto-globuline) varie dans de fortes proportions et peut être quelquefois doublée.

Enfin, une dernière expérience nous a permis de nous rendre compte que les bacilles ne jouent qu'un rôle secondaire dans le phénomène d'agglutination puisque tués, devenus inertes par une solution de formol, enlevés de leur milieu de culture, lavés à l'eau distillée puis à l'alcool, à l'éther, ils peuvent tout aussi bien agglutiner.

La poudre de talc, l'encre de Chine peuvent agglutiner

sous l'influence d'un sérum quelconque à condition que la dissolution contenant les fines parcelles de talc ou d'encre de Chine soit suffisamment acide mais sans excès pour précipiter l'acéto-globuline du sérum.

Dans tous les traités de Bactériologie, il est recommandé de n'employer que des cultures d'Eberth vieilles de 12 à 24 h. Le milieu de culture sera, en plus, approprié au bacille ; on ne doit se servir des cultures de b. de Koch en bouillon glycérimé qu'après 8 à 12 jours (*S. Arloing*).

Ces cultures donnent une réaction plus nette. Pourquoi toutes ces précautions ?

Précisément parce qu'une culture de b. d'Eberth âgée de 12 à 24 h., ou celle du b. de Koch âgée de 8 à 12 jours présente l'acidité nécessaire et suffisante pour provoquer la précipitation de l'acéto-globuline.

Un point de technique nous semble capital, disent *Widal* et *Ravaut*, c'est de ne point pratiquer la Séro Réaction d'agglutination sans avoir essayé sa culture avec un tube témoin. Cette précaution est absolument indispensable car, de jour en jour, le pouvoir agglutinant des cultures varie considérablement.

Le bacille tétanique de Nicolaïer n'agglutine pas parce que ses cultures liquides deviennent rapidement alcalines.

De même, le bacille dysphérique de Loeffler agglutinera mal parce que son milieu de culture est d'abord trop acide et ensuite s'alcalinise dans de fortes proportions.

Si certains auteurs ont pu faire agglutiner le b. dysphérique (*Nicolas, Martini, Bruno, Frænkel*), c'est peut-être parce qu'ils avaient une culture remplissant la condition d'acidité voulue.

D'un autre côté, pourquoi est-il recommandé de ne faire la Séro Agglutination de la fièvre typhoïde qu'à partir du second septenaire de la maladie ?

Parce que la quantité d'agglutinine dans le sérum serait alors plus élevée ?

Comme on a jamais pu isoler la dite agglutinine on pourrait attribuer le phénomène à la quantité d'acéto globuline incluse dans le sérum d'un typhique qui souvent a doublé, comme nous avons pu nous en rendre compte expérimentalement.

Cette idée cadre bien avec les courbes établies en particulier pour la Tuberculose par *S. Arloing* et *P. Courmont*. Combien qui ont montré :

1° Une agglutination très marquée dans les cas bénins ou moyens de bacilliose ou de fièvre typhoïde ;

2° Une agglutination en quelque sorte négative dans les formes graves ou mortelles.

Dans le premier cas, l'organisme résiste, se défend, son activité se manifeste par des combustions, des échanges organiques dont le mécanisme nous échappe mais qui influent sur la composition du sérum et qui influent surtout sur le taux des matières protéiques, principalement sur le taux de l'acéto globuline.

Dans le second cas, l'organisme reste atone, la violence en processus morbide ou la faiblesse du terrain est telle qu'aucune réaction de défense se produit. Peu ou pas d'échanges organiques, ni d'activité cellulaire, la composition du sérum reste à peu près normale quant aux matières albuminoïdes. *S. Arloing*, *Bayle*, *Dumarest* avaient depuis longtemps exprimé le fait que l'intensité

de l'agglutination semblait proportionnelle à l'activité de la défense organique.

Le dosage de l'acéto globuline, le taux de cette albumine pourrait, peut-être, devenir un indice précieux pour le diagnostic et le pronostic des maladies infectieuses.

Ceci n'est d'ailleurs qu'une hypothèse qui aurait besoin d'être approfondie.

CONCLUSIONS

I

Les phénomènes d'Agglutination dépendent :

a) De la composition chimique du milieu de culture, de sa teneur en sels minéraux ou organiques alcalins, principalement en chlorure de sodium, et de son acidité ;

b) De la quantité d'acéto-globuline qui, en se précipitant, semble entraîner l'agglutinine, si on s'en tient à l'hypothèse généralement admise d'après laquelle celle-ci se développerait réellement en temps qu'anticorps spécifique distinct dans un sérum au cours d'une maladie infectieuse ;

c) Des bacilles, dont l'importance paraît secondaire et se réduire à un rôle plutôt passif que spécifique.

II

La Séro-Réaction d'Agglutination semble donc pouvoir se rattacher à un phénomène d'ordre physico-chimique qui résulte d'une rupture moléculaire entre les divers éléments aboutissant ainsi à l'entraînement mécanique des bacilles dans un réseau d'acéto-globuline préalablement précipité par acidité du milieu.

Le Président de la Thèse,

ARLOING.

Vu :

Le Doyen,

HUGOUNENQ.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Lyon, le 5 juin 1920.

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université.

JOUBIN.

BIBLIOGRAPHIE

1. Pathologie générale par P. COURMONT.
2. Sur le mécanisme de l'agglutination des microbes par les sérums normaux ou immunisés. S. ARLOING (Société de Biologie, décembre 1899).
3. Variation de l'Agglutination des b. de la Tuberculose. S. ARLOING. (Revue de la Tuberculose, juin-août 1904.)
4. Les sérums agglutinants le b. d'Eberth ont-ils la même action sur le b. de Koch. S. ARLOING et P. COURMONT. (Journal de Physiologie et de Pathologie générale, juillet 1903.)
5. Traité de l'immunité. J. BORDET.
6. Agglutination du b. de la Tuberculose ; premiers essais de séro-diagnostic. S. ARLOING. (Congrès de Montpellier, avril 1898.)
7. Recherches sur la nature de la substance agglutinante et sa fixation sur les albumines du sang et des humeurs de typhique. (Académie de Médecine, septembre 1896.)
8. Recherche de la substance agglutinée. NICOLLE. (Annales de l'Institut Pasteur, 1898.)

9. Étude sur l'agglutination comparée du vibron cholérique et les microbes voisins par le sérum spécifique et par les substances chimiques. BOSSAERT. (Annales Institut Pasteur, 1898.)
10. Le mécanisme de l'agglutination. J. BORDET. (Annales Institut Pasteur, 1899.)
11. Agglutination des bacilles de la Tuberculose. S. ARLOING. (Comptes rendus à l'Académie des Sciences, mai 1898.)
12. Sur les moyens d'obtenir les cultures du b. de Koch les plus propres à l'étude du phénomène d'Agglutination. S. ARLOING et P. COURMONT. (Académie des Sciences, août 1898.)
13. Étude de la réaction agglutinante dans les infections expérimentales et humaines à pneumocroque. BEZANCON et GRIFFON. (Annales Institut Pasteur, 1900.)
14. Variabilité de l'aptitude agglutinative du bacille d'Eberth. SACQUEPÉE. (Annales Institut Pasteur, 1901.)
15. Recherche sur le rôle de l'enveloppe des microbes dans l'agglutination. G. DEFALLE. (Annales Institut Pasteur.)
16. Suite d'expérience relative aux phénomènes d'agglutination des microbes. Ch. NICOLLE. (Annales Institut Pasteur, 1904.)
17. Recherches sur l'agglutination des globules rouges par les précipités chimiques et sur la suspension de ces précipités dans les molaires colloïdaux. GENGOU. (Annales Institut Pasteur, 1904.)
18. Séro-diagnostic et variabilité des microbes suivant le milieu de culture. J. BORDET et SLEESWYK. (Annales Institut Pasteur.)

19. Sur l'agglutination des microbes immobiles par les sérums normaux. L. NÈGRE et RAYNAUD. (Annales Institut Pasteur, 1911.)
 20. Contribution à l'étude des matières albuminoïdes du sérum sanguin. PATEIN. (Journal de Pharmacie, 1906.)
 21. Influence de la précipitation d'acéto-globuline sur le pouvoir hémolytique du sérum sanguin. PATEIN. (Journal de Pharmacie, 1913.)
 22. Signification de la Réaction agglutinante chez les typhiques. P. COURMONT.
-

